



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**USO DE PREBIÓTICO PARA TILÁPIA-DO-NILO DURANTE O PERÍODO DE
INVERSÃO SEXUAL**

Maria Jamille de Miranda Brito

**AREIA – PB
AGOSTO DE 2014**

MARIA JAMILLE DE MIRANDA BRITO

**USO DE PREBIÓTICO PARA TILÁPIA-DO-NILO DURANTE O PERÍODO DE
INVERSÃO SEXUAL**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Zootecnia da Universidade Federal da
Paraíba, para a obtenção do título de
Zootecnista.

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO LUIS RODRIGUES

**AREIA – PB
AGOSTO DE 2014**

MARIA JAMILLE DE MIRANDA BRITO

**USO DE PREBIÓTICO PARA TILÁPIA-DO-NILO DURANTE O PERÍODO DE
INVERSÃO SEXUAL**

COMISSÃO EXAMINADORA

**Prof^o. Dr. Marcelo Luis Rodrigues
Orientador**

**Prof^o. MSc. Angelo Sousa Oliveira
Examinador**

**Zootecnista MSc. Maria de Lourdes Ferreira Hipólito
Examinadora**

Aos meus amados pais JOSINALDO E SOCORRO...

*Por tudo que fizeram e fazem por mim. Por me incentivar a
seguir enfrente em busca dos meus ideais...*

*Pois sem a preciosa ajuda de vocês eu jamais conseguiria chegar
onde cheguei.*

*“Dedico-lhes esta conquista com a minha mais profunda
admiração e respeito”*

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a DEUS, causa primária de toda a minha existência. Por sempre me conduzir ao caminho certo, por mais que às vezes não entenda.

Agradeço aos meus pais: Josinaldo e Socorro, pelo amor incondicional, educação e grande incentivo durante todas as fases da minha vida! Amo vocês!

Aos meus queridos irmãos Phelipe e Flávia, pela cumplicidade e amizade. Sinto muita a falta de vocês, desde quando saí de casa há cinco anos e sempre sentirei!

Ao meu sobrinho lindo, Kauã Phelipe que titia ama muito e sentem muito sua falta.

À todos meus familiares que sempre me apoiaram e deram força para seguir em frente.

À Prof. Dr. MARCELO LUÍS RODRIGUES pela orientação, oportunidades e espelho de um profissional ético e competente. Alguém que admiro muito, e na figura de orientador e mestre, me transmitiu vários ensinamentos necessários para obtenção de êxito neste trabalho. Agradeço pelo incentivo, dedicação e por ter acreditado no meu potencial.

À o professor Dr. Ricardo Gerra, profissional de grande capacidade de conhecimento e determinação, que me ajudou muito para a conclusão desse trabalho.

À todos os funcionários do Setor de Piscicultura, em especial Maria de Lourdes que foi como uma mãe para mim, nesse período

que estive pela piscicultura e José, que nunca negou esforços para me ajudar durante todo experimento.

Ao meus amigos, pela paciência, por aguentarem os meus momentos de chatices, pelos momentos de risadas, de ensinamentos por que não? se aprendemos muito uns com os outros, por aguentarem minhas lamentações e choros sem motivos aparentes, enfim , pelos momentos de alegrias e dificuldades. Quero que saibam que vocês fazem e farão sempre parte da minha vida: ADRIANO, ANGELO, ELIVÂNIA.

A vocês que, claro não poderia esquecer, foram os que me deram forças para continuar a lutar pelos os meu objetivos, me fazendo raiva ou não, fizeram e faz parte da minha história: Sidney Saymon, Edvânia e Felipe.

Não poderia esquecer de você: Raquel Montenegro, que se não fosse sua ajuda não sei o que seria de mim e do meu experimento, nos momentos que mais precisei, ali estava você, a disposição para ajudar.

A todos os professores do Centro de Ciências Agrárias (CCA)-Areia, por todos os ensinamentos.

E a todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1. Tilápia do Nilo	03
2.2. Inversão sexual	04
2.3. Prebiótico	05
3. MATERIAL E MÉTODOS	07
3.1. Local de execução do experimento	07
3.2. Delineamento experimental.....	07
3.3. Condução do experimento.....	07
3.4. Variáveis estudadas	08
3.4.1. Análise histológica	08
3.5. Análise estatística.....	09
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
5. CONCLUSÃO	15
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Desempenho de larvas de tilápia-do-nilo na fase de inversão sexual alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de MOS.....	19
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Altura das vilosidades intestinais de larvas de <i>O. niloticus</i> suplementados com níveis crescentes de MOS na dieta....	11
Figura 2. Fotomicrografias de intestino delgado de Tilápia do Nilo sem inclusão de prebiótico e com inclusão de prebiótico na dieta..	12
Figura 3. Fotomicrografias de fígado de tilápias do Nilo com dietas sem prebiótico (T1) e com prebióticos em diferentes níveis (T2, T3 e T4).....	14

RESUMO

BRITO, M.J.M. **USO DE PREBIÓTICO PARA TILÁPIA-DO-NILO DURANTE O PERÍODO DE INVERSÃO SEXUAL**. 2014, 30 p. Trabalho de Conclusão de Curso-Centro de Ciências Agrárias, UFPB, Areia-PB, agosto de 2014.

Objetivou-se avaliar a ação do prebiótico mananoligossacarídeos (MOS), durante a inversão sexual em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados dezesseis aquários de vidro com capacidade de 50 Litros, com sistema de circulação de água, temperatura da água controlada e aeração contínua, foram utilizados 240 animais, sendo 15 larvas de tilápia por unidade experimental, distribuídos em quatro tratamentos e quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado. A ração utilizada foi a ração comercial em pó com 45% de proteína bruta (PB), com a adição de 60 mg/kg de 17- α -metiltestosterona, e quatro níveis crescentes de pré-biótico (MOS) 0; 0,04; 0,08; e 0,12%. Avaliou-se as variáveis de desempenho, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar. Foi realizada coleta dos segmentos do intestino delgado para procedimento das análises histológicas, avaliando-se altura de vilosidade. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para o peso final, no ganho de peso, e comprimento final, durante o processo de masculinização. A utilização do prebiótico MOS na dieta de tilápia do Nilo desde a eclosão até os 30 dias de vida levou a um aumento significativo ($\alpha\leq 0,05$) na altura da vilosidade intestinal independentemente do nível de inclusão. Pode-se concluir que a inclusão do MOS na fase larval, promove um maior aumento de vilosidade.

Palavras-chave: larvicultura, mananoligossacarídeo, metiltestosterona.

ABSTRACT

Brito, M.J.M. **PREBIOTIC USE FOR NILE TILAPIA DURING THE SEXUAL INVERSION**. 2014, 30p. Course Conclusion Work-Center for Agricultural Sciences, UFPB Areia-PB, August 2014.

This study aimed to evaluate the effects of prebiotic mananoligosaccharids (MOS), during sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Sixteen glass aquaria were used with a capacity of 50 liters with water circulation, temperature controlled water and continuous aeration system, 240 animals were used: 15 tilapia larvae per experimental unit, divided into four treatments and four replications, totaling 16 experimental units using a completely randomized design. The feed used was a commercial powdered feed with 45% crude protein (CP), with the addition of 60 mg / kg of 17- α -methyltestosterone, and four increasing levels of prebiotic (MOS) 0; 0.04; 0.08; and 0.12%. We evaluated the performance variables, weight gain, feed intake, feed conversion. Collection of segments of the small intestine was performed to procedure of histological analysis, evaluating villus height. No differences ($P > 0.05$) were observed for body weight, weight gain and final length, during the process of masculinization. The use of prebiotic MOS in the diet of Nile tilapia from hatching to 30 days of life led to a significant increase ($\alpha \leq 0.05$) in intestinal villus height regardless of the level of inclusion. It can be concluded that the inclusion of MOS in the larval stage, promotes a greater increase villus.

Keywords: hatchery, mananoligosaccharids, methyltestosterone.

1. INTRODUÇÃO

A água é um dos recursos naturais mais importantes do planeta e essencial para a produção aquícola, o Brasil embora detenha a maior parte desse recurso, não é o maior produtor de pescado. A maior concentração dos reservatórios se encontram nas áreas do semi-árido do nordeste, no entanto, regionalmente falando não é onde concentra-se a maior produção no país (local onde se concentra) é evidente o potencial dessa região, relativamente pouco explorada. Essas áreas de oportunidade demandam estratégias e tecnologias que atendam as necessidades do mercado local de uma forma sustentável e contribua para o desenvolvimento regional.

Segundo a FAO, (2010) o Brasil poderá se tornar um dos maiores produtores do mundo até 2030 de pescado, fortalecendo a produção através da incorporação de parques aquícolas continentais, como os reservatórios formados por barragem de hidrelétricas. A região Sul do Brasil destaca-se no cenário nacional como a maior produtora de tilápia-do-Nilo em sistemas intensivos de produção (MPA, 2010). A piscicultura brasileira cresceu nos últimos anos o equivalente a 60,2%, e a produção de tilápia-de-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em apenas sete anos (2003-2009), aumentou 105% (MPA, 2010).

Por apresentar excelentes índices produtivos, a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie exótica mais criada em tanques-rede no Brasil. O cultivo de tilápias ainda necessita de estudos quanto à sua nutrição, principalmente quanto à utilização de aditivos para melhoria do desempenho. Com a restrição do uso de alguns promotores de crescimento, principalmente os antibióticos e alguns quimioterápicos, o uso de mananoligossacarídeos (MOS) nas rações tem promovido resultados interessantes no desempenho desta espécie.

A inversão sexual é de fundamental importância para o cultivo racional da tilápia do Nilo, em função da necessidade de obtenção de indivíduos machos para a engorda, evitando problemas provenientes dos gastos energéticos com a cópula e desova, excesso populacional nos viveiros e nesta espécie, o macho cresce mais que a fêmea (MEURER et al., 2005).

A utilização de prebióticos como aditivos na nutrição de peixes vem aumentando cada vez mais como alternativa ao uso de quimioterápicos como promotores de crescimento. No entanto seu uso na nutrição de peixes está na fase inicial quando comparado a outras espécies domésticas como aves e suínos (CECHIM, 2013).

O mananoligossacarídeo (MOS) é um prebiótico proveniente da parede celular de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), que está sendo muito utilizado como aditivo na dieta

dos peixes, no intuito de diminuir a colonização e proliferação de bactérias patogênicas no intestino do animal. O MOS age como estimulante dos mecanismos de defesa dos peixes.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ação do prebiótico mananoligossacarídeos (MOS), na fase larval, durante o período de inversão sexual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Segundo MPA (2011) os reservatórios de usinas hidrelétricas (ANEEL) e propriedades particulares no interior do país, possui 3,5 milhões de hectares de lâmina d'água, que podem ser explorados para a piscicultura. O Brasil é considerado a grande potência para o desenvolvimento da piscicultura, devido o clima e o território favorável (CECHIM,2013). Quando comparada aos outros segmentos de produção animal, a aquicultura vem se destacando á nível mundial com crescimento médio nos últimos anos. A piscicultura possui segmentos e possibilidade ao longo de toda a cadeia produtiva.

Devido à exaustão do setor pesqueiro extrativo nas últimas décadas, o rápido crescimento da aquicultura tem sido a única forma de acompanhar esta crescente demanda do consumo de pescado no contexto mundial. Sendo assim, a piscicultura mundial vem crescendo consideravelmente e é esperado em resposta ao crescimento populacional o aumento da demanda por produtos oriundos do pescado. No Brasil nos últimos anos a piscicultura vem sofrendo constantes transformações, consolidando-se na principal atividade do agronegócio brasileiro, vindo até a substituir em parte, o peixe proveniente da pesca extrativa (FIRETT et al., 2007).

2.1. TILÁPIA DO NILO

A tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) é originária da bacia do rio Nilo, no Leste da África, encontrando-se amplamente disseminada nas regiões tropicais e subtropicais, (CARVALHO, 2006). No Brasil a espécie foi introduzida no ano de 1971 pelo DNOCS - Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) em projetos de peixamento dos reservatórios públicos da Região Nordeste, mas devido à falta de domínio sobre as técnicas de produção as taxas de êxito foram muito baixas (NOGUEIRA, 2007). Sendo bastante difundida em países de clima tropical e subtropical, a tilápia vem crescendo nos últimos anos no Brasil, pelo seu crescimento acelerado, aceitação de rações balanceadas, carne de excelente qualidade, facilidade na filetagem e ausência de ossos intramusculares.

A tilápia apresenta características reprodutivas bem expressivas, como alta prolificidade, maturidade sexual precoce e desova freqüente (parcelada). Fazendo com que o controle reprodutivo seja um dos maiores desafios na tilapicultura (TURRA et al., 2010). A superpopulação de tilápias em viveiros de cultivo é consequência das suas características reprodutivas da espécie, como alta capacidade de reprodução, maturidade sexual precoce,

fecundidade relativa elevada e desova freqüente, prejudicando a taxa de crescimento dos indivíduos devido à alta densidade. Para controlar este problema existem os métodos de inversão sexual, por meio de hormônio masculinizante, fornecido diretamente na ração (Borges et al., 2005; Zanardi et al., 2011).

A tilápia é considerada uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva devido a sua alta e rápida taxa de crescimento, flexibilidade às mudanças ambientais, fácil reprodução e rusticidade (EL-SAYED, 2006). Das espécies exóticas que se destacam no panorama nacional está a tilápia-do-Nilo, representando 39% do cultivo de peixes (*O. niloticus*), principal peixe de água doce cultivado, em escala mundial (FAO, 2012; KUBITZA et al., 2012).

Devido o alto estresse que os animais são submetidos durante a produção de alevinos, os animais ficam mais susceptíveis a doenças, ocorrendo grandes mortalidades e prejuízos econômicos na atividade. Com o objetivo de minimizar esse problema, vários estudos estão sendo realizados nos últimos anos, visando a substituição dos antibióticos na produção animal, especialmente em cultivos de organismos aquáticos (NAYAK, 2010).

2.2. INVERSÃO SEXUAL

A inversão sexual é de grande importância no cultivo de tilápias, visando lotes monossexo macho assim evitando gastos energéticos com a cópula e desova, e até mesmo devido ao desenvolvimento dos machos ser mais acelerado quando comparado às fêmeas. Para a inversão sexual faz-se o uso do hormônio 17 α -metiltestosterona, durante a fase larval do animal. A inversão sexual em tilápia só é possível devido ao fato da espécie ser gonocorista indiferenciada. Neste caso, as gônadas desenvolvem-se primeiro como estruturas semelhantes ao ovário e posteriormente, metade dos indivíduos da população desenvolvem-se em machos e outra metade em fêmeas (YAMAZAKI, 1983). Este fator possibilita a completa e funcional reversão de sexo (CARVALHO, 1985). Assim o cultivo monossexo é o único meio de canalizar energia ao crescimento (YAMAZAKI, 1976).

A técnica de inversão em tilápia tem uma grande importância no seu cultivo, que consiste em cultivar apenas indivíduos machos para engorda, no intuito de evitar a reprodução no cultivo, sendo assim aumentar a produção, onde os machos tem um crescimento maior do que as fêmeas, tendo assim um maior rendimento de carcaça, crescimento mais homogêneo e controle da população. O percentual de machos fenotípicos após tratamento hormonal de inversão sexual freqüentemente fica acima de 95%. O hormônio mais utilizado para esse

processo é o esteróide 17- α -metiltestosterona adicionado à dieta em dosagens de 30 a 60 mg/Kg de ração, durante 21 a 28 dias de alimentação (Bombardelli e Hayashi, 2005). Entretanto, vários fatores podem interferir no índice de inversão, como qualidade de água, temperatura, frequência de arrazoamento, qualidade do hormônio, forma de sua incorporação na ração e a idade da larva, podendo assim determinar uma redução significativa na eficiência desse processo (Popma e Green, 1990).

A produção de larvas em cativeiro surgiu para acompanhar o crescimento das pisciculturas, fornecendo peixes de boa qualidade e em grandes quantidades. A maior dificuldade de sucesso na produção de larvas de peixes está relacionada com a dieta a ser ofertada, tendo em vista que nesta fase os peixes precisam de uma alimentação balanceada, rica em energia, para o seu rápido desenvolvimento. As pós-larvas de peixes tem um crescimento acelerado, deste modo, são bastante exigentes em nutrientes. Devido às pós-larvas apresentarem reservas corporais mínimas de nutrientes, qualquer deficiência na sua nutrição é logo notada. Alguma deficiência nutricional nessa fase pode causar problemas futuros no seu crescimento. As pós-larvas de tilápias possuem trato digestivo completo.

O hormônio 17 α -metiltestosterona é um produto sintético, utilizado para induzir inversão sexual, produzindo monossexo macho.

Os primeiros estudos no Brasil com vistas aos aspectos nutricionais dos peixes são do ano de 1981, sendo os peixes cultivados em viveiros escavados e alimentados com sobras de outras culturas agrícolas (SUSSEL, 2008). Apenas na década de 90 a nutrição animal e a eficiência das rações passaram a ser uma preocupação dos pesquisadores, os quais utilizaram rações de aves e de suínos. Entretanto, estas não atendiam às exigências nutricionais da espécie de peixe em questão, resultando em resíduos na água e rendimento insatisfatório (SUSSEL, 2008).

2.3. PREBIÓTICO

Devido o alto custo das rações para peixes, procuram-se alternativas para uma dieta de baixo custo que atenda suas exigências nutricionais. Dentre essas, estão os prebióticos como aditivo, que futuramente poderá ser adicionada a ração, para que haja uma redução da carga de bactérias indesejáveis do trato intestinal dos peixes, significando um aumento no desempenho produtivo. Os prebióticos poderá favorecer a assimilação no metabolismo digestivo, da ração, porém não vai surtir o efeito esperado.

Os prebióticos são substâncias não digeríveis por enzimas de trato gastrointestinal, mas capazes de serem seletivamente hidrolisadas por micro-organismos específicos que compõem a microbiota intestinal, promovendo benefícios ao hospedeiro (Gibson e Roberfroid, 1995), ou seja, são produtos que servem como substratos para o crescimento de microrganismos benéficos. Para ser classificada como prebiótico a substância não pode ser degradada e tem ter a capacidade de beneficiar a microflora intestinal do hospedeiro (Dionizio et al., 2002; Silva e Andreatti Filho, 2000).

De acordo com Santos et al. (2008), os prebióticos mais utilizados como aditivos na alimentação de animais de produção são os frutoligossacarídeos (FOS), glicoligossacarídeos (GOS) e mananoligossacarídeos (MOS). Estes produtos, ainda podem ser adicionados em diferentes concentrações na dieta do animal.

O uso de antibióticos com o objetivo de melhorar o ganho de peso e a conversão alimentar ocorreu inicialmente de forma discreta, evoluindo posteriormente para o uso amplo e generalizado na indústria de alimentação animal (FLEMMING, 2005). A restrição ao uso de antibióticos em doses sub - terapêuticas como aditivos na nutrição animal está crescendo, em todo o mundo, devido à possibilidade do desenvolvimento de resistência bacteriana (FURLAN et al., 2004). Como uma das alternativas, para diminuir o uso de antibióticos na alimentação animal, utilizou-se da levedura do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, organismos, abundantemente encontrados em frutas cítricas, cereais e vegetais.

Os oligossacarídeos são nomeados pelo açúcar predominante, e os suplementos mais comuns são os frutoligossacarídeos (FOS) e mananoligossacarídeos (MOS). A frutose e manana são açúcares reconhecidos pelos patógenos, mas são indisponíveis para uso quando estão ligados à forma de oligossacarídeo. Os patógenos são atraídos a se ligarem ao oligossacarídeo e então, tornam-se incapazes de aderirem à mucosa intestinal (McCann et al., 2006).

O mananoligossacarídeo (MOS) é um dos oligossacarídeos mais pesquisado com ação prebiótica, derivado da parede celular de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, tem sido utilizado em dietas com o objetivo de melhorar a conversão alimentar, a integridade da mucosa intestinal e a saúde dos peixes, resultando em melhor ganho econômico. Onde se encontra as manoses que estão responsáveis pelas ligações dos patógenos, impedindo a ligação dos mesmos com o epitélio intestinal e com outras bactérias impossibilitando a formação de colônia. O MOS tem ação no sistema imunológico e na prevenção da proliferação de bactérias patogênicas no trato digestório, reforçando o sistema imunológico,

reduzindo a mortalidade e, conseqüentemente, elevando a produtividade (CULJAK et al., 2006; STAYKOV et al., 2005; STAYKOV et al., 2007).

A levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) é um produto obtido da fermentação alcoólica da cana-de-açúcar e das indústrias cervejeiras, é rico em inositol, um promotor de crescimento natural, além de glutamato, que possui efeitos benéficos sobre a palatabilidade e nucleotídeos, que desempenham importantes funções nutricionais em animais e humanos (Pezzato, 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de execução do experimento

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura do Centro de Ciências Agrárias (CCA), Campus II da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), localizado na cidade de Areia, Estado da Paraíba.

Foram utilizados dezesseis aquários de vidro com capacidade de 50 Litros, com sistema de circulação de água, temperatura da água controlada e aeração contínua.

3.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (0,00; 0,004; 0,008 e 0,012% de prebiótico (MOS) na ração) e quatro repetições, sendo 15 larvas de tilápia em cada unidade experimental. Totalizando 16 unidades experimental.

3.3. Condução do experimento

Foram utilizadas 240 pós-larvas de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) recém-eclodidas. As pós-larvas foram mantidas nos aquários por 30 dias.

No decorrer do período experimental, foi realizada aferição da temperatura da água e o oxigênio dissolvido na água (mg/L), duas vezes ao dia, às 07h30min e às 19h30min, todos os aquários com o auxílio do (Oxímetro digital Lutron DO-5519). O pH e a amônia, foram aferidos a cada 15 dias. Os animais foram pesados e medidos com paquímetro digital, no início (peso e tamanho inicial) do experimento e no final (peso e tamanho final).

Durante o período experimental, a temperatura foi mantida na faixa de 29°C. A ração utilizada foi a ração comercial em pó com 45% de proteína bruta (PB), com a adição de 60 mg/kg de 17- α -metiltestosterona, e quatro níveis crescentes de pré-biótico (MOS) 0; 0,04; 0,08; e 0,12%. Durante o período experimental, os animais foram alimentados seis vezes ao

dia (às 07h30min, 09h30min, 11h30min, 13h30min, 15h30min e 17h30min), a oferta da ração foi à vontade observando o consumo da dieta até alcançar a saciedade aparente. Os aquários foram sifonados todos os dias para retirar acúmulos de restos de ração e fezes.

3.4. Variáveis estudadas

3.4.1. Análise histológica

Para as análises histomorfométricas, ao final do experimento foram coletados fragmentos de 1 cm do intestino delgado e fragmentos hepáticos menores que 1 cm³, sendo imediatamente fixados em solução de formol 10%. No Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Agrárias CCA/UFPB, as amostras foram desidratadas, infiltradas com parafina, cortadas a uma espessura de 0,5µm e coradas com hematoxilina e eosina (HE) para análise de altura de vilosidade e alcian blue para estudo do fígado conforme metodologia descrita por Junqueira & Carneiro (2013).

As amostras dos segmentos intestinais e fígados foram fixadas em solução de formol a 10%, em coletores universais identificados de acordo com os tratamentos. Em seguida, foram desidratadas em soluções com concentrações crescentes de álcoois (70, 90, 100 I e 100 II%), permanecendo por 60 minutos em cada solução. Em seguida foram diafanizadas em imersão de álcool+xilol e após em dois banhos de xilol com duração de 60 minutos cada, antes de realizar a infiltração dos tecidos, foi colocada a amostra em xilol+parafina por 60 minutos. Após esse processo, foi realizada a infiltração dos tecidos em parafina líquida I e II a 72°C com duração de uma hora cada, seguido de inclusão em parafina. Após a microtomia semi-seriada, a uma espessura de 5 micrômetros (µm), as fitas retiradas foram transferidas para banho-maria a 54°C e estendidas em lâminas identificadas por tratamento. Foi confeccionadas três lâminas por bloco, totalizando 12 blocos por tratamento, com uma média de quatro tecidos por lâmina; posteriormente, estas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) para altura de vilosidade e alcian blue para estudo do fígado conforme metodologia descrita por Junqueira & Carneiro (2013). As lâminas foram então seladas utilizando lamínulas e Bálsamo do Canadá.

As fotomicrografias foram digitalizadas por meio do software KS400 4.4, marca ZEISS, utilizando-se para tanto microscópio Olympus (modelo BX60) e câmera AxioCam (Modelo HCr, marca ZEISS) para o procedimento.

Para o estudo morfométrico da altura de vilosidade foram visualizadas em microscópio e digitalizadas pelo menos 3 imagens por animal, sendo cada tratamento

composto por 8 animais. Para cada imagem foram aferidas pelo menos duas medições morfométricas para altura de vilosidade com aumento de 50x, perfazendo um “n” mínimo de 48, por tratamento.

Para a análise histopatológica do fígado foi observado às características da arquitetura do parênquima e das células do órgão.

3.5. Análise estatística

Para a análise estatística foi comparada a média de altura das vilosidades entre os tratamentos (controle e inclusões de prebiótico), sendo utilizado ANOVA com Tukey como pós test.

Para as variáveis de desempenho e histológica realizou-se uma análise de variância e, na interpretação das estimativas, foi utilizado o modelo de regressão, considerando o coeficiente de determinação e o fenômeno em estudo. Todas as análises foram feitas utilizando o software estatístico SAS 9.2 (2011).

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) no peso final, no ganho de peso, no comprimento final, durante o processo de masculinização (Tabela 1). Sendo assim, o peso e comprimento foram igual entre os tratamentos, provavelmente em idades superiores, os animais suplementados com o prebiótico tenderão atingir o peso ao bate mias rápido em comparação aos animais que não foram suplementados com o MOS, este fato pode ser explicado, devido a maior absorção de nutrientes, pelas vilosidades maiores e mais integras.

Variável	Níveis de MOS (%)			
	0	0,004	0,008	0,012
Peso inicial (g)	0,0085	0,0082	0,0081	0,0079
Peso final (g)	3,3706	2,8206	3,1320	3,3285
Comprimento inicial (mm)	9,23	9,42	9,80	9,92
Comprimento final (mm)	57,72	52,76	55,37	56,81

Tabela 1 - Desempenho de larvas de tilápia-do-nilo na fase de inversão sexual alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de MOS.

A utilização do prebiótico MOS na dieta de tilápia do Nilo desde a eclosão até os 30 dias de vida levou a um aumento significativo ($\alpha\leq 0,05$) na altura da vilosidade intestinal independentemente do nível de inclusão (figura 1). As vilosidades intestinais, dentre outras funções é responsável pela absorção de nutrientes, podendo o tamanho das mesmas serem influenciadas pelo alimento fornecido (Xu et al., 2009).

No caso deste estudo, podemos inferir que o alimento não teria influenciado na altura das vilosidades, porque a ração foi a mesma para todos os tratamentos, variando apenas os níveis de MOS, entretanto, a alteração das vilosidades nos indica que há uma tendência promissora, no uso do MOS nessa fase, tendo em vista que, poderá promover melhor absorção dos nutrientes na fase subsequente (alevino), em que há uma velocidade de crescimento maior. Ratificando a informação, CECHIM (2013) encontrou que há efeito significativo da adição de MOS à dieta sobre a morfologia intestinal. Aos 30 dias de experimento, a adição de 0,4% promoveu maior ($P<0,05$) altura das vilosidades ($436,984 \pm 66,82\mu\text{m}$), seguido do controle ($401,011 \pm 70,73 \mu\text{m}$) que não diferiu da adição de 0,8% ($404,090 \pm 62,62 \mu\text{m}$).

Altura de vilosidade intestinal de tilápia tratada com prebiótico

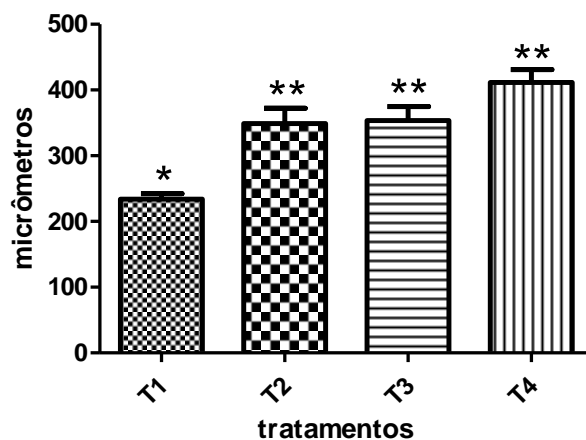


Figura 1- Altura das vilosidades intestinais de larvas de *O. niloticus* suplementados com níveis crescentes de MOS na dieta.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com os descritos por CECHIM (2013) que a suplementação de prebióticos na dieta de peixes e animais domésticos pode influenciar de forma significativa a morfologia e integridade das vilosidades intestinais. Carvalho et al., (2011) observaram que o uso de probiótico ou de prebiótico na ração há diferença significativa entre os tratamentos quanto a altura das vilosidades ou a espessura de seu epitélio. Sales et al., (2012) encontraram que os peixes suplementados com 0,4% de MOS na dieta apresentaram maior altura das vilosidades ($436,98 \pm 66,81 \mu\text{m}$) quando comparado aos demais tratamentos ($p < 0,05$).

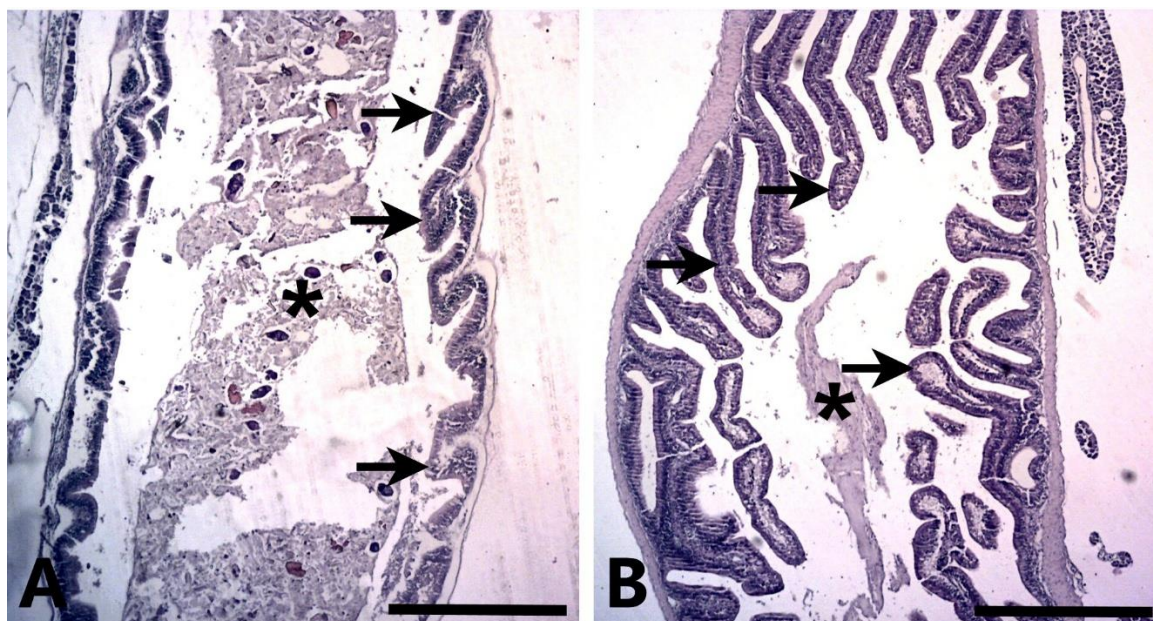


Figura 2- Fotomicrografias de intestino delgado de tilápia do Nilo sem inclusão de prebiótico e com inclusão de prebiótico na dieta. A) Intestino representativo de animais de tratamento (T1) sem inclusão de prebiótico na dieta. B) Intestino representativa de animais de tratamentos (T2, T3, T4) com inclusão de prebiótico na dieta. Observar que no tratamento sem prebiótico as vilosidades (setas) são menores e nos tratamentos com prebiótico as vilosidades (setas) são maiores e mais preservadas. Asterisco: conteúdo intestinal. Coloração de hematoxilina-eosina. Barra: 1000 micrômetros.

Segundo Gomide Junior et al. (2004), o desenvolvimento intestinal, inclusive de suas vilosidades está relacionado com o consumo de nutrientes. Aliado a isso, o desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, correspondendo a um aumento em número de suas células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas) (Maiorka et al., 2002). Com o aumento das vilosidades e, consequentemente, maior área de contato do alimento com as células absorptivas (enterócitos), ocorre aumento da absorção intestinal (Aptekmann et al., 2001; Gomide Júnior et al., 2004). O aumento da área de contato com o alimento potencializa, inclusive, o processo de digestão e absorção dos nutrientes em função da maior área de contato e efetividade enzimática no nível de mucosa e lúmen intestinal (Campos et al., 2007).

Segundo SCHWARZ et al., (2011) o nível de 0,34% de MOS pode ser incluído em dietas para larvas de tilápias-do-nilo durante o período de masculinização para melhorar a morfologia da mucosa intestinal e a conversão alimentar dessa espécie. A adição de mananoligossacarídeos na dieta tem influência positiva na densidade de vilos, resultando em uma mucosa com maior integridade (SCHWARZ et al., 2011).

A presença de agentes tróficos, neste caso o MOS provavelmente estimularam o desenvolvimento da mucosa intestinal, a partir do processo de síntese de novas células epiteliais e sendo fator determinante para o equilíbrio do *turnover* proteico (Rezende e Beletti, 2008).

Já é sabido que o MOS, um dos oligossacarídeos mais pesquisado com ação prebiótica, derivado da parede celular de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, melhora a conversão alimentar, a integridade da mucosa intestinal e a saúde dos peixes, resultando em melhor ganho econômico (CULJAK et al., 2006; STAYKOV et al., 2005; STAYKOV et al., 2007). Entretanto, sua função no aumento da altura das vilosidades intestinais, e consequentemente o aumento da área de absorção intestinal ainda era desconhecida. O MOS também é conhecido por agir na prevenção da colonização de bactérias patogênicas no trato digestório, melhorando o desempenho dos peixes (CULJAK et al., 2006; STAYKOV et al., 2005; STAYKOV et al., 2007).

Para as observações hepáticas, podemos ressaltar que o aumento da concentração de prebiótico na dieta levou a uma lipidose hepática (vacúolos lipídicos citoplasmáticos) (setas) e o não uso de prebiótico na dieta é caracterizado por fígados com degeneração citoplasmática (ponta de seta), pode ser observado na figura 3.

O aumento do prebiótico na dieta levou a um aumento no depósito de gordura no fígado, processo chamado de lipidose hepática que é caracterizado pelo acúmulo de lipídios no citoplasma dos hepatócitos; esse processo também é chamado de esteatose. A esteatose é um processo normal em animais de produção que tem uma dieta bem calórica, muito visto em animais de alta produção como poedeiras, frangos de corte e codornas. O fato dos animais com maior inclusão de prebiótico na ração apresentarem tal processo deve estar relacionado com a maior integridade intestinal e maior tamanho de vilosidade intestinal, o que permite maior absorção da ração administrada.

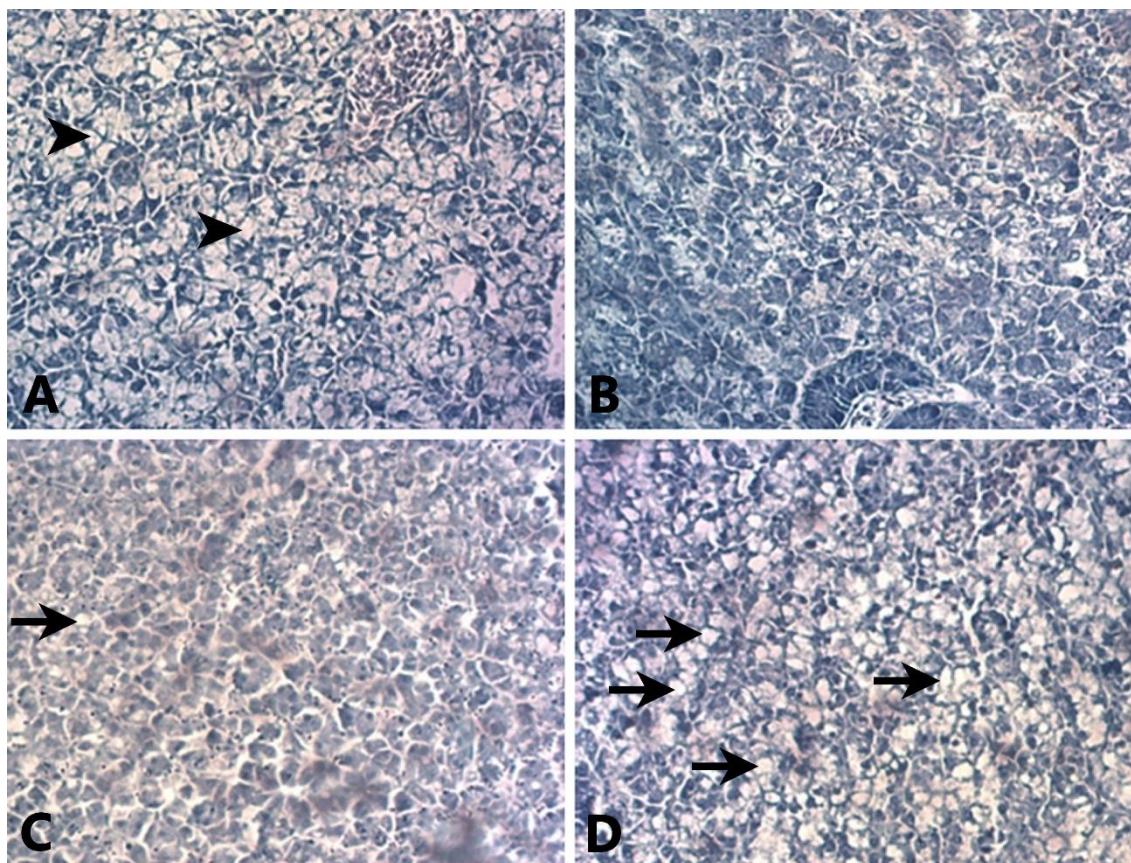


Figura 3- Fotomicrografias de fígado de tilápias do Nilo com dietas sem (T1) e com prebióticos em diferentes níveis (T2, T3 e T4). A) Fígado de animais sem prebiótico da dieta. B) Fígado de animais com 0,004% de prebiótico na dieta. C) Fígado de animais com 0,008% de prebiótico na dieta. D) Fígado de animais com 0,012% de prebiótico na dieta. Observar que o aumento da concentração de prebiótico na dieta levou a uma lipídose hepática (vacúolos lipídicos citoplasmáticos) (setas) e o não uso de prebiótico na dieta é caracterizado por fígados com degeneração citoplasmática (ponta de seta). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 100x.

5. CONCLUSÃO

A inclusão do MOS na fase larval, promove um maior aumento de vilosidade intestinal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APTEKMANN, K. P. et al. **Morphometric analysis of the intestine of domestic quails (*Coturnix coturnix japonica*) treated with different levels of dietary calcium.** Anat. Hist. Embryol. 30:277–280. 2001
- BOMBARDELLI, R.A. et al. (2004). **Masculinização de larvas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por banhos de imersão e o andrógeno dissolvido em solução de dimetilsulfóxido (DMSO).** Acta Scientiarum: animal sciences, Maringá, v.26, n.2, p.209-215.
- BOMBARDELLI, R.A, HAYASHI, C. **Masculinização de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a partir de banhos de imersão com 17 α -metiltestosterona.** Rev Bras Zootec, v.34, p.365-372, 2005.
- BORGES, A.M. et al. (2005). **Produção de populações monossexo macho de tilápia-do-nilo da linhagem Chitralada.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Rio de Janeiro, v.40, n.2, p. 153-159.
- BORGES, A. M.; MORETTI, J. O. C.; MCMANUS, C.; MARIANTE, A. S. **Produção de populações monossexo macho de tilápia-do-nilo da linhagem Chitralada.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.40, n.2, p.153-159, 2005.
- CAMPOS, D. M. B.; F. FILHO, D. E.; TORRES, K. A. A. et al. **Desenvolvimento da mucosa intestinal e a substituição do milho por sorgo na dieta de pintainhos de corte.** Revista de Ciências Veterinárias, v. 5, p. 44-48, 2007.
- CARVALHO, E.D. **Avaliação dos impactos da piscicultura em tanques-rede nas represas dos grandes tributários do alto Paraná (Tietê e Paranapanema): o pescado, a ictiofauna agregada e as condições limnológicas.** Relatório Científico (FAPESP). Botucatu, SP. 2006. 46p.
- CARVALHO, J.V. **Mananoligossacarídeo e *Bacillus subtilis* na alimentação de alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*).** 2010. 57f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, Universidade Federal da Bahia - Escola de Medicina Veterinária, 2010.
- CARVALHO, J. V.; LIRA, A. D.; COSTA, D.S. P.; MOREIRA, E. L. T.; PINTO, L. F. B.; ABREU, R. D.; ALBINATI, R. C. B. **Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo.** Rev. Bras. Saúde Prod. An., Salvador, v.12, n.1, p.176-187 jan/mar, 2011.
- CASTAGNOLLI, N. **Aqüicultura para o ano 2000.** Brasília: CNPq, 1996. 95p.
- CECHIM, Flávio Endrigo. **Características morfológicas do epitélio intestinal e desempenho de tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* suplementada com mananoligossacarídeo (mos).** 2012. 55f. Dissertação (Produção Animal) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, 2012.

- DIONIZIO, M. A. et al. **Prebióticos como Promotores de Crescimento para Frangos de Corte – Desempenho e Rendimento de Carcaça.** Ciênc. Agrotec. Lavras. Edição Especial, p.1580-1587, 2002.
- EL-SAYED, A.- F.M. **Intensive Culture.** In: Abdel-Fattah M. El-Sayed (Ed). Tilapia Culture, London, Cap.5, p.70-94, 2006.
- FURLAN, R.L., MACARI, M., LUQUETTI, B.C. **Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva.** In: 5º SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO. Balneário Camboriú, SC. 2004.
- FALONE, S.Z.; VIEIRA, E.M.; ONUSKA, F.I. (2006). **Adsorption study of RDX and TNT explosives in soils by HPLC.** Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, New York, v.29, n.11, p.1645-1662.
- FAO. **The state of world fisheries and aquaculture 2008.** Rome, 2009. 176 p.
- FIRETTI, R.; GAECIA, S.M.; SALES, D.S. **Planejamento estratégico e verificação de riscos na piscicultura.** Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2007_4/Planejamento/Index.htm> Acesso em: 14 de maio de 2014.
- FLEMMING, J.S.; **Utilização de Leveduras, Probióticos e Mananoligossacarídeos (MOS) na Alimentação de Frangos de Corte.** 2005. 109 f. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- GENC, M. A; YILMAZ, GENC, E; E and AKTAS, M. **Effects of Dietary Mannan Oligosaccharides (MOS) on Growth, Body Composition, and Intestine and Liver Histology of the Hybrid Tilapia (Oreochromis niloticus x O. aureus).** The Israeli Journal of Aquaculture. Bamidgheh, v.59(1), p. 10-16, 2007.
- GIBSON, G.R., ROBERFROID, M.B. **Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics.** Journal Nutrition, vol. 125, p.1401–12, 1995.
- GOMES, L.C.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M. e ROUBACH, R; **Alevino – um termo equivocado na piscicultura brasileira com consequências no setor produtivo.** Cadernos de Ciência & Tecnologia, v.20 (2), p.353-359, 2003.
- GOMIDE JUNIOR, M.H.; STERZO, E.V.; MACARI, M. et al. **Use of scanning electron microscopy for the evaluation of intestinal epithelium integrity.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, p.1500-1505, 2004.
- JUNQUEIRA, L.C.U; CARNEIRO, J. Histologia básica. 12ª ed. 2013, 556p.

- LIRANÇO, A. D. S; ROMAGOSA, E; CAMARGO, A. L. S. **Desempenho de tilápia do nilo submetidas à dietas contendo prebiótico e imestimulante.** Zootec, Águas de Lindóia, maio. 2009.
- MAIORKA, A.; DAHLKE, F.; SANTIN, E. et al. **Effect of energy levels of diets formulated on total or digestible amino acids basis on broiler performance.** Brazilian Journal of Poultry Science, v.6, n.2, p.87-91, 2004.
- MEURER, F. et al. **Fontes protéicas suplementadas com aminoácidos e minerais para tilápia do Nilo durante a reversão sexual.** Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 16, 2005.
- MPA **Ministério da Pesca e Aquicultura** Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/#aquicultura/informacoes/producao>>; acesso em: 14 de maio de 2014.
- NOGUEIRA, A. C; RODRIGUES, T. **Criação de tilápias em tanques-rede.** – Salvador: Sebrae Bahia, p.23, 2007.
- PEZZATO, L. E. **Qualidade dos ingredientes, processamento e eficiência alimentar em Aquicultura.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., Goiânia, 2002. Anais. Goiânia: UFG. p. 116. 2002.
- POPMA, T.J; GREEN, B.W. **Sex reversal of tilapia in earthen ponds: aquaculture production manual.** Auburn, AL: Auburn University, 1990. 15p. (Research and Development Series, 35).
- PROENÇA, C.E.M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de Piscicultura Tropical.** Brasília: IBAMA, 1994.196p.
- REZENDE, B.J.; BELETTI, M.E. **Análise histomorfométrica do desenvolvimento do intestino delgado de galinhas poedeiras.** In: XII Seminário de Iniciação Científica, 2008, Uberlândia-MG. Anais... Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2008.
- SANTOS, T.N.S.; CASTRO, V.; SOARES, A.L.; et al, **Prebióticos, probióticos e simbióticos na nutrição dos animais (Revisão).** Revista Eletrônica Nutritime, v.5, n° 3, p.573-576, 2008.
- SCHWARZ, K.K.; FURUYA, W.M.; NATALI, M.R.M.; GAUDEZI, M.C.; LIMA, P.A.G. **Mananoligossacarídeos em dietas para larvas de tilápia.** R. Bras. Zootec., v.40, n. 12, p. 2634-2640, 2011.
- SELZSAM, B., Grote, K., Gericke, C., Niemann, L., Wittfoht, W., Chahoud, I., 2005. **Effects of methyltestosterone on reproduction in the Japanese quail(Coturnix coturnix japonica).** Environmental Research 99, 327-334.
- SILVA, E. N. & ANDREATTI FILHO, R. L. **Probióticos e Prebióticos na Avicultura.** 2º Simpósio de Sanidade Avícola. p.45-55. Santa Maria: RS, 2000.

- SOUSA, A.D.L.; **Mananoligossacarídeo e β -glucano na suplementação dietária para juvenis de Tilápia-do-nilo mantidos em tanques-rede.** 2010. 51 p. Trabalho de Tese – Universidade estadual de São Paulo – UNESP, São Paulo, 2010.
- SUSSEL, F. R.; **Alimentação de Peixes em Tanques-Rede Nutrição de Peixes.** Apta Centro Leste - UPD Pirassununga e-mail: sussen@apta.sp.gov.br 2008.
- TURRA, E. M.; OLIVEIRA, D. A. A.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; PRADO, S. A.; MELO, D. C.; FARIA, P. M. C.; SOUSA, A. B. Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.34, n.1, p.21-28, 2010.
- Wang, Y. H.; Xu, M.; Wang, F. N.; Yu, Z. P.; Yao, J. H.; Zan, L. S.; Yang, F. X. **Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats.** *Livestock Science*, n.122, p.48–52, 2009.
- ZANARDI, M. F.; **Fontes de lipídios na reprodução e larvicultura de tilápia-do-nilo.** 2011. 100 p. Trabalho de Tese – Universidade estadual de São Paulo - UNESP – CAUNESP, São Paulo, 2011.
- ZANARDI, M. F. DIAS-KOBERSTEIN, T. C. R.; DOS SANTOS, M. A. MALHEIROS, E. B. **Desempenho produtivo e reversão sexual em tilápias em dois métodos hormonais.** *Veterinária e Zootecnia*, Botucatu, v. 18, n. 1. p. 45-52. 2011.